

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der
Philipps-Universität Marburg
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med R. Hilgermann

Untersuchung über den dünnschichtchromato-
graphischen Nachweis von
Diazepam (VALIUM[®])
neben Carbamazepin (TEGRETAL[®])

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
NORBERT LUH
aus Lützellinden
Marburg 1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der
Philipps-Universität Marburg
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med R. Hilgermann

Untersuchung über den dünnschichtchromato-
graphischen Nachweis von
Diazepam (VALIUM[®])
neben Carbamazepin (TEGRETAL[®])



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
NORBERT LUH
aus Lützellinden
Marburg 1977



Angenommen von dem Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 27. 5. 1977

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. med F. Neurath

Referent: Prof. Dr. med R. Hilgermann

Correferent: Prof. Dr. med J. Portig

I n h a l t

A. <u>Einleitung und Themastellung</u>	Seite 1
B. <u>Nachweis von Diazepam und Diazepammetaboliten</u> <u>nach Kamm und Baier</u>	3
1. Arbeitsvorschrift	3
2. Erläuterung des Prinzips des Verfahrens	4
C. <u>Eigene Untersuchungen</u>	5
1. Identifizierung des unbekannten Pharmakons	5
2. Untersuchungen über den dünn-schichtchromato- graphischen Nachweiszeitraum von Carbamazepin im Urin.	8
3. Untersuchungen über den dünn-schichtchromato- graphischen Nachweiszeitraum von Carbamazepin im Blut.	18
4. Untersuchungen über den dünn-schichtchromato- graphischen Nachweis von Carbamazepin im Blutserum	28
5. Ausarbeitung einer Methode zur eindeutigen Differenzierung von Diazepam (VALIUM®) und Carbamazepin (TEGRETAL®) nebeneinander.	29
a) Differenzierung von Diazepam und Carbama- zepin mit Hilfe des Sprühmittels Jodoplatinat.	31
b) Differenzierung von Diazepam und Carbama- zepin durch den Sofortnachweis von Diazepam neben der Nativfluoreszenz von Carbamazepin.	32
c) Nachweis der Umwandlung von 2-Methylamino- 5-chlor-benzophenon in 2-Amino-5-chlor- benzophenon durch Bestrahlung mit ultra- violetttem Licht.	34
d) Die vorgeschlagene Methodik zum Nachweis von Diazepam neben Carbamazepin im Urin.	38
D. <u>Zusammenfassung</u>	39
E. <u>Literatur</u>	40

A Einleitung und Themastellung

Über den Nachweis von Pharmaka in Körperflüssigkeiten existiert eine umfangreiche Bibliographie, aufgeschlüsselt nach qualitativen und quantitativen Methoden, nach Verfahren der Colorimetrie, der Polarographie, der Autoradiographie und der Chromatographie.

G. Schmidt fordert für diese chemisch-physikalischen Methoden allgemein gültige Voraussetzungen:

- A) große Spezifität
- B) hohe Empfindlichkeit
- C) geringer Arbeitsaufwand
- D) geringe Störanfälligkeit
- E) Dokumentation der Ergebnisse

Die Dünnschichtchromatographie hat sich als die Methode herausgestellt, welche die von Schmidt geforderten Bedingungen am besten erfüllt.

Ein Großteil der Pharmaka wird im Rahmen der forensischen Toxikologie anhand der Dünnschichtchromatographie identifiziert.

Eine häufige Aufgabe ist der rasche Nachweis der Einnahme des Beruhigungsmittels Diazepam (VALIUM®). Dafür hat sich das Verfahren von Kamm und Baier (1968) bewährt, das den Nachweis von Diazepam im Urin durch allmähliche Ausbildung des fluoreszierenden Metaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon rasch und zuverlässig gestattet.

An einer Anzahl untersuchter Urinproben, die aus psychiatrisch-neurologischen Krankenhäusern stammten, war dieses Verfahren gestört durch die Anwesenheit eines unbekannten Pharmakons, das eine Spontanfluoreszenz mit dem gleichen Rf-Wert zeigte wie der im Urin anzutreffende Diazepam-metabolit 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon.

Dieses Problem gab den Anlaß, die störende Substanz zu identifizieren und festzustellen, wie lange die Störung nach Einnahme des betreffenden Medikamentes anhält. Außerdem sollte ein Weg gefunden werden, der eine rasche und eindeutige Differenzierung der beiden Medikamente erlaubt.

B Nachweis von Diazepam und Diazepam=
metaboliten nach Kamm und Baier.

1) Arbeitsvorschrift

In einem Schliffkolben wurden 20 ml des gewonnenen Urins mit 2,5 ml konzentrierter Salzsäure versetzt und 30 Minuten unter Rückfluß im Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen wurde das Hydrolysat mit 10 N Natronlauge alkalisiert bis ein pH von 9 erreicht war. Im Anschluß daran wurde das Reaktionsgemisch dreimal mit peroxydfreiem Aether extrahiert, die Extrakte vereinigt und über geglühtem Natriumsulfat entwässert. Der Aether wurde bei niedriger Temperatur auf dem Wasserbad abdestilliert und der Destillationsrückstand in wenigen Tropfen Benzol gelöst.

Der in Benzol gelöste Destillationsrückstand der zu untersuchenden Urinprobe wurde neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz auf die Dünnschichtchromatographieplatten, die nach der Arbeitsvorschrift von Kamm und Baier hergestellt und vorbereitet wurden, aufgetropft.

Die fertigen Platten wurden dann in der Trennkammer (DESAGA) in die mobile Phase des Fließmittels (Benzol) getaucht und solange darin belassen, bis eine Laufstrecke von ungefähr 17 cm erreicht war. Dann wurde die Platte aus der Trennkammer herausgenommen und an der Luft getrocknet.

Die auf der fertig entwickelten Chromatographieplatte, nach Ablauf von 12 Stunden, entstandene Fluoreszenz des Diazepam-Metaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon wurde unter der UV-Lampe markiert.

Anschließend wurde das Dünnschichtchromatogramm 3 Minuten lang in die Gasphase der Diazotierkammer gestellt, nach Ablauf der Zeit herausgenommen und die überschüssige salpetrige Säure im kalten Luftstrom verjagt.

Im Anschluß daran wurde das Chromatogramm mit dem Sprühmittel N-(α -Naphthyl)-äthylendiamin-dihydrochlorid besprüht.

Während des Besprühens färbte sich der gekennzeichnete Fleck des 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon gelb; gleichzeitig erschien unterhalb dieses Fleckes, in Höhe des Rf-Wertes 0,27 das Diazepamabbauprodukt 2-Amino-5-chlor-benzophenon als violetter Fleck.

2) Erläuterung des Prinzips des Verfahrens

Das Versetzen der Probe mit Salzsäure und das anschließende Erhitzen bewirkt eine saure Hydrolyse. Es läuft bei intaktem Diazepam (Blut) eine Ringspaltung ab; dabei bildet sich ein Aminobenzophenonkörper, der in der sauren Lösung in Salzform vorliegt. Der gleiche Benzophenonkörper wird auch bei Körperpassage gebildet und erscheint im Urin an Glucuronsäure gekoppelt. Bei der Behandlung von Urin mit Säure wird diese Bindung an Glucuronsäure gelöst. Durch Alkalisieren mit Natronlauge setzt man die Aminform in Freiheit und kann diese wenig wasserlösliche Substanz durch wiederholte Extraktion mit einem wenig polaren organischen Lösungsmittel (Aether) abtrennen. Das nach der Aetherextraktion verbliebene Wasser wird mit geglühtem Natriumsulfat abgefangen. Während der Diazotierung, im Anschluß an die Entwicklung in der Trennkammer, wandelt die salpetrige Säure in der Gasphase der Diazotierkammer die primären Amine der Diazepamabbauprodukte in die entsprechenden Diazoniumsalze um.

C Eigene Untersuchungen

1. Identifizierung des unbekannten Pharmakons

Aus der Medikamentenanamnese eines Patienten, bei dem der dünn-schichtchromatographische Nachweis von Diazepam gestört war, ging hervor, daß neben VALIUM noch fünf weitere Pharmaka appliziert waren:

- a) ATOSIL[®]
- b) BVK-ROCHE[®]
- c) TEGRETAL[®]
- d) DIHYDERGOT[®]
- e) ORAP[®]

Da es sich bei einem dieser Medikamente um den Störfaktor des dünn-schichtchromatographischen Diazepam-nachweises handeln mußte, wurden die Säurehydrolysate dieser fünf Handelspräparate nach der von Kamm und Baier beschriebenen Methode hergestellt und neben dem Diazepam-Metabolit 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon entwickelt.

Ansätze:

- a) 20 Tropfen ATOSIL[®] + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- b) 1 Drg. BVK-ROCHE[®] + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- c) 1 Tbl. TEGRETAL[®] + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- d) 20 Tropfen DIHYDERGOT[®] + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- e) 1 Tbl. ORAP[®] + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl

Diese Ansätze wurden dreißig Minuten unter Rückfluß im kochenden Wasserbad erhitzt und nach Abkühlung mit 10 N Natronlauge auf einen pH von 9 alkalisiert. Es folgte eine dreimalige Extraktion mit peroxydfreiem Aether; die Extrakte wurden vereinigt und über geglühtem Natriumsulfat entwässert.

Nach dem Abdestillieren des Aethers wurden die Destillationsrückstände in wenigen Tropfen Benzol aufgenommen und neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon auf Dünnschichtchromatographieplatten aufgetragen, die entsprechend der Vorschrift von Kamm und Baier mit Kieselgel G nach Stahl beschichtet waren. Nach der Entwicklung des Dünnschichtchromatogramms in einer Glaskammer (DESAGA) mit Benzol als Fließmittel wurde die Platte getrocknet.

Der Fluoreszenznachweis unter der UV-Lampe entlarvte das Medikament TEGRETAL[®] als Störfaktor in dem dünnschichtchromatographischen Nachweis von Diazepam, denn die Fluoreszenz von TEGRETAL[®] hatte den gleichen Rf-Wert wie die Fluoreszenz des Diazepammetaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon.

Zeichenerklärung

○	+++	starke,
○	++	gut erkennbare,
○	+	schwach erkennbare,
◦	(+)	bedingt erkennbare,
	∅	keine Fluoreszenz

1. Identifizierung des unbekannten Pharmakons

Dünnschichtchromatographische Darstellung der Säure=hydrolysate von:

Atosil® (A)

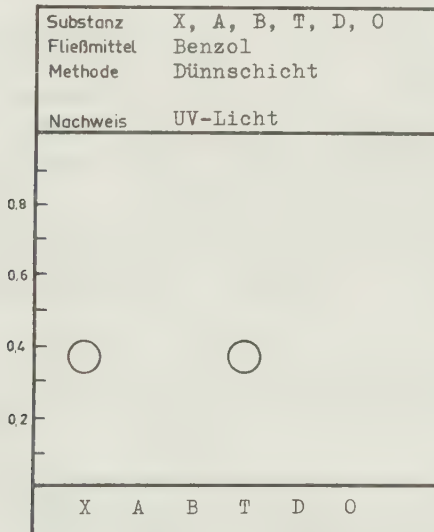
BVK-Roche® (B)

Tegretal® (T)

Dihydergot® (D)

Orap® (O)

neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon (X)



Rf - Wert 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon 0,38

Rf - Wert Tegretal® 0,38

2. Untersuchungen über den dünnsschichtchromatographischen Nachweiszeitraum von Tegretal[®] im Urin

Dünnsschichtchromatographischer Nachweis von Tegretal[®] in Urinproben in 4-stündigem Abstand, nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tbl. Tegretal[®] (200 mg). Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Gewinnung der Urinportionen

Der Versuchsperson, die eine Woche vor Beginn und während der Laufzeit des Versuches weder Medikamente noch stark farbstoffhaltige Speisen (Rotkraut, Tomaten, Paprika) zu sich nehmen durfte, um das Chromatogramm nicht zu verfälschen, wurde zu Beginn 1 Tablette Tegretal[®] (200 mg) oral verabreicht.

Im Anschluß daran wurde der im Abstand von vier Stunden spontan abgegebene Urin in jeweils einer, mit Datum und Uhrzeit versehenen, Kunststoffflasche verwahrt.

Nach Bestimmung der Urinmenge und der Wasserstoffionenkonzentration (pH-Meter) wurde der Urin sofort angesäuert und dann im Kühlschrank bei 5° C aufbewahrt.

Die auf diese Weise behandelten Urinportionen wurden jeweils am Tage nach der Sammelperiode nach der im Folgenden beschriebenen Methode aufgearbeitet.

Herstellung der Hydrolyseprodukte

In einem Schliffkolben wurden 20 ml Urin mit 2,5 ml konzentrierter Salzsäure versetzt und 30 Minuten unter Rückfluß im Wasserbad erhitzt. Die zunächst bernstein-gelbe Farbe des Urins veränderte sich während des Erhitzens in ein schmutziges Dunkelbraun. Nach dem Abkühlen wurde das Hydrolysat mit 10 n Natronlauge alkalisiert, bis ein pH von 9 erreicht war.

Während des Alkalisierens erhöhte sich die Temperatur der Flüssigkeit durch Freiwerden von Neutralisationswärme. Nach einem nochmaligen Abkühlen wurde das Produkt dreimal mit peroxydfreiem Aether extrahiert, die Extrakte vereinigt und über geglühtem Natriumsulfat entwässert. Nach Abdestillation des Aethers wurde der Destillationsrückstand in wenigen Tropfen Benzol gelöst.

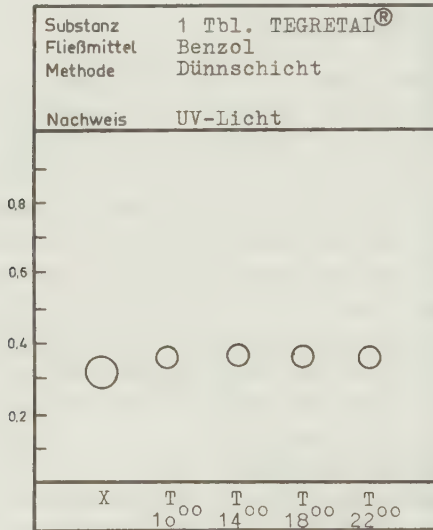
Dünnschichtchromatographie

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Glasplatten verwendet, die, entsprechend der Vorschrift von Kamm und Baier, mit Kieselgel G nach Stahl beschichtet waren. Der in Benzol gelöste Destillationsrückstand wurde mit Hilfe von Kapillaren auf den Startpunkt der Kieselgelplatte aufgetragen. Als Startpunkt der Substanz wurde ein Punkt gewählt, der 1,5 cm vom unteren Plattenrand entfernt lag. Auf einer Kieselgelplatte wurden sechs Startpunkte festgelegt, fünf für die täglich anfallenden Urinproben und einen für den Diazepam-Metaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon, der als Vergleichssubstanz aufgetropft wurde.

Die fertigen Platten wurden dann in der Glastrennkammer (DESAGA) in die mobile Phase des Fließmittels (Benzol) getaucht und solange darin belassen, bis eine Laufstrecke von ungefähr 17 cm erreicht war. Dann wurde die Platte aus der Trennkammer herausgenommen und an der Luft getrocknet. Der Nachweis der Substanzflecke erfolgte mit UV-Licht.

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL[®]) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL[®] am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.
Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

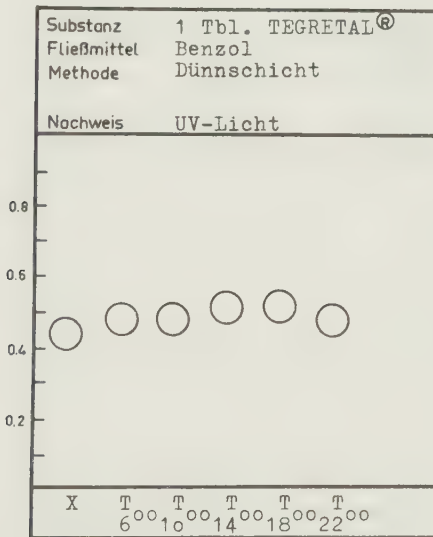
Dünnschichtchromatogramm vom 6.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	pH	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL [®] 200 mg				
10 ⁰⁰	4 h	140	6,5	++	0,356
14 ⁰⁰	8 h	90	6,5	++	0,356
18 ⁰⁰	12 h	120	6,5	++	0,358
22 ⁰⁰	16 h	130	6,7	++	0,352
X =	2-Methylamino-5-chlor-benzophenon			+++	0,312

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.
Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

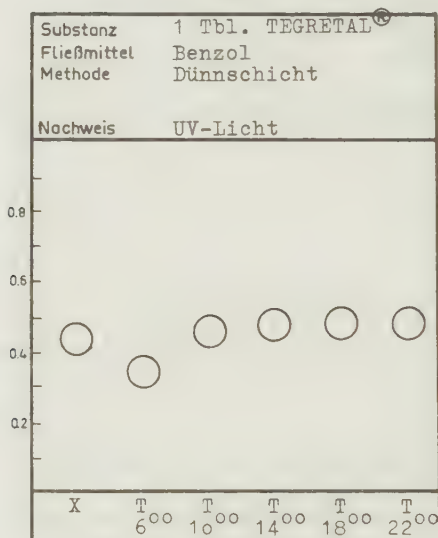
Dünnschichtchromatogramm vom 7.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	pH	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	24 h	175	5,9	+++	0,485
10 ⁰⁰	28 h	130	5,9	+++	0,475
14 ⁰⁰	32 h	100	5,6	+++	0,500
18 ⁰⁰	36 h	160	5,6	+++	0,510
22 ⁰⁰	40 h	90	5,6	+++	0,475
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++	0,430

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.
Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

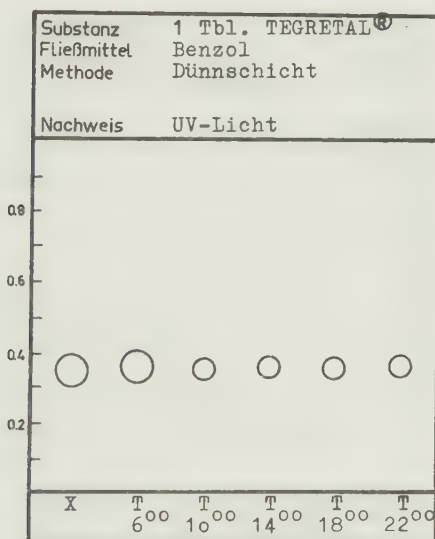
Dünnschichtchromatogramm vom 8.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	ph	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	48 h	240	6,2	+++	0,330
10 ⁰⁰	52 h	110	6,5	+++	0,460
14 ⁰⁰	56 h	170	5,4	+++	0,475
18 ⁰⁰	60 h	90	5,6	+++	0,475
22 ⁰⁰	64 h	150	5,4	+++	0,475
X =	2-Methylamino-5-chlor-benzophenon			+++	0,443

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.
Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

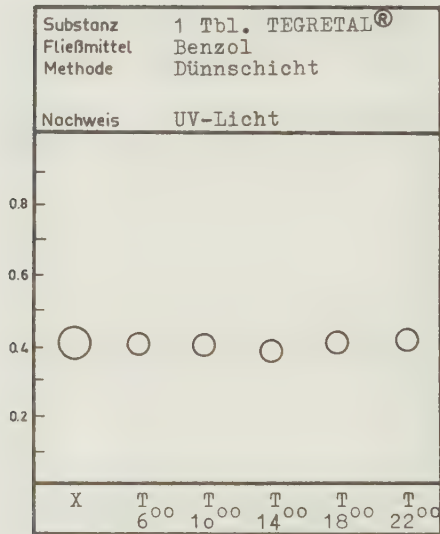
Dünnschichtchromatogramm vom 9.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	pH	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	72 h	190	5,4	+++	0,346
10 ⁰⁰	76 h	120	5,4	++	0,346
14 ⁰⁰	80 h	150	5,4	++	0,346
18 ⁰⁰	84 h	140	5,2	++	0,346
22 ⁰⁰	88 h	170	5,4	++	0,350
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++	0,340

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz. Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

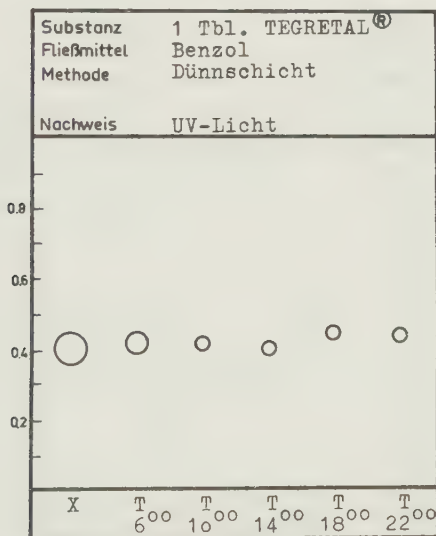
Dünnschichtchromatogramm vom 10.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	pH	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	96 h	240	5,7	++	0,405
10 ⁰⁰	100 h	160	5,6	++	0,410
14 ⁰⁰	104 h	80	5,4	++	0,380
18 ⁰⁰	108 h	120	5,4	++	0,410
22 ⁰⁰	112 h	160	5,4	++	0,425
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++	0,410

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz. Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

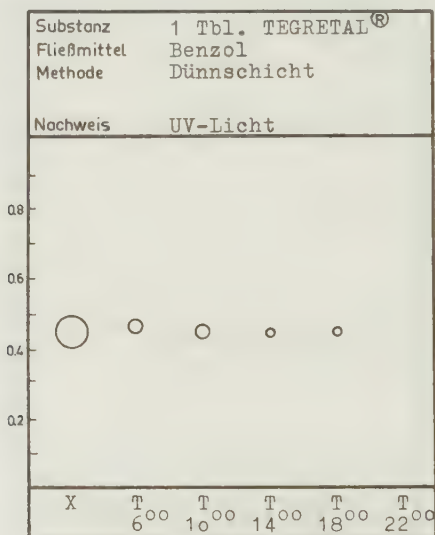
Dünnschichtchromatogramm vom 11.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	pH	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	120 h	210	5,5	++	0,430
10 ⁰⁰	124 h	130	5,4	+	0,430
14 ⁰⁰	128 h	190	5,4	+	0,400
18 ⁰⁰	132 h	105	5,4	+	0,446
22 ⁰⁰	136 h	150	5,3	+	0,440
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++	0,423

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in Urin=proben in 4 stündigem Abstand, nach Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 6.5.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz
Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Dünnschichtchromatogramm vom 12.5.74



Zeit	Probe nach	Menge/ml	pH	Nachweis	Rf
6 ⁰⁰	144 h	130	5,7	+	0,450
10 ⁰⁰	148 h	95	5,7	+	0,443
14 ⁰⁰	152 h	180	6,1	(+)	0,443
18 ⁰⁰	156 h	165	6,1	(+)	0,443
22 ⁰⁰	160 h	170	5,6	∅	∅
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++	0,443

Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Tegretal in Urinproben in 4-stündigem Abstand nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette Tegretal[®] (200 mg) am 6.5.74.

Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

V Versuchsergebnis

Das renale Ausscheidungsprodukt des Medikamentes Tegretal[®], das mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie 156 Stunden im Urin nachweisbar war, zeigte die gleiche Fluoreszenz und hatte, von geringfügigen Abweichungen abgesehen, den gleichen Rf-Wert wie der Metabolit des Diazepam 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon.

Die beiden Substanzen unterschieden sich nur in einem einzigen Punkt.

Die Fluoreszenz von Tegretal[®] war schon nach dem Trocknen der fertig entwickelten Chromatographieplatte erkennbar, während die Fluoreszenz von 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon, wie schon von Kamm und Baier im Jahre 1968 beschrieben wurde, erst nach Ablauf von 12 Stunden sichtbar wurde.

3. Untersuchungen über den dünn-schichtchromatographischen Nachweiszeitraum von Carbamazepin im Blut.

Dünn-schichtchromatographischer Nachweis von Carbamazepin in zweimal täglich entnommenen Blutproben nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL[®] (200 mg) am 15.7.74 .

Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Gewinnung der Blutproben

Dem Probanden wurde zu Beginn der Versuchsreihe 1 Tablette TEGRETAL[®] (200 mg) oral verabreicht. Der Genuß von farbstoffhaltigen Speisen und von Medikamenten war im gleichen Zeitraum verboten wie bei den Urinversuchen.

Im Anschluß daran wurde jeweils zweimal täglich um 7⁰⁰ Uhr und um 16⁰⁰ Uhr eine Blutprobe von 20 ml aus einer Cubitalvene entnommen und in entsprechend etikettierten verschließbaren Glasröhrchen im Kühlschrank bei 5° C aufbewahrt. Die so behandelten Blutproben wurden jeweils am Tage nach der Entnahme nach der im Folgenden beschriebenen Vorschrift aufgearbeitet.

Herstellung der Hydrolyseprodukte

In einem Schliffkolben wurden 5 ml Frischblut mit 5 ml Aqua dest. und 3 ml konzentrierter Salzsäure vereinigt und 30 Minuten unter Rückfluß im Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung wurde mit 10 n Natromlauge alkalisiert, bis ein pH von 9 erreicht war.

Das Reaktionsprodukt wurde nach Abkühlen mit peroxydfreiem Aether dreimal extrahiert, die Extrakte vereinigt und mit Hilfe von geglühtem Natriumsulfat entwässert. Nach der Trennung vom Trockenmittel wurde der Aether in niedrigem Temperaturbereich abdestilliert. Der Rückstand wurde in einigen Tropfen Benzol aufgenommen

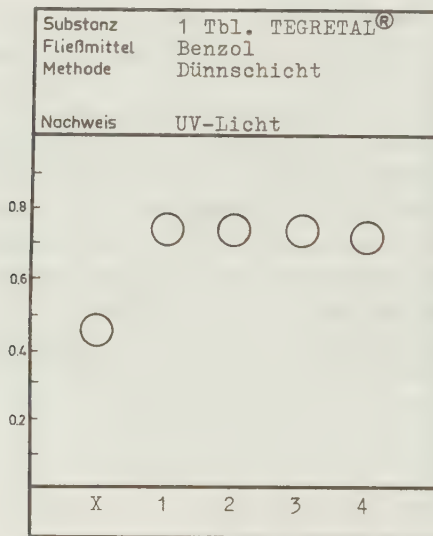
Dünnschichtchromatographie

Die in Benzol gelösten Destillationsrückstände wurden mit Hilfe von Kapillaren nach beschriebener Methode auf die nach der Vorschrift von Kamm und Baier hergestellten Kieselgelplatten aufgetropft. Die fertigen Platten wurden dann in der Glastrennkammer (DESAGA) in die mobile Phase des Fließmittels (Benzol) getaucht und solange darin belassen, bis eine Laufstrecke von ungefähr 17 cm erreicht war. Dann wurden die Platten aus der Trennkammer herausgenommen und an der Luft getrocknet. Der Nachweis der Substanzflecke erfolgte zunächst unter dem UV-Licht.

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in zweimal täglich entnommenen Blutproben, nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 15.7.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.

Versuchsperson: N.L.; 26.; männl.; 63 kg

Dünnschichtchromatogramm vom 15. und 16.7.74

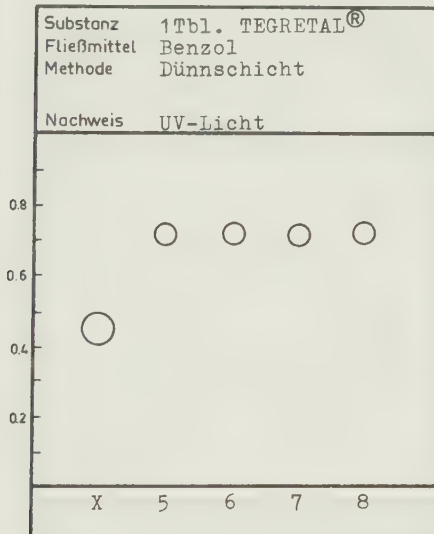


Nummer auf dem Chromatogramm	Datum	Uhrzeit	Nachweis	Rf
1	15.7.74	12 ⁰⁰	+++	0,735
2	15.7.74	16 ⁰⁰	+++	0,735
3	16.7.74	7 ⁰⁰	+++	0,735
4	16.7.74	16 ⁰⁰	+++	0,720
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++ 0,459

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in zweimal täglich entnommenen Blutproben, nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 15.7.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.

Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Dünnschichtchromatogramm vom 17. und 18.7.74

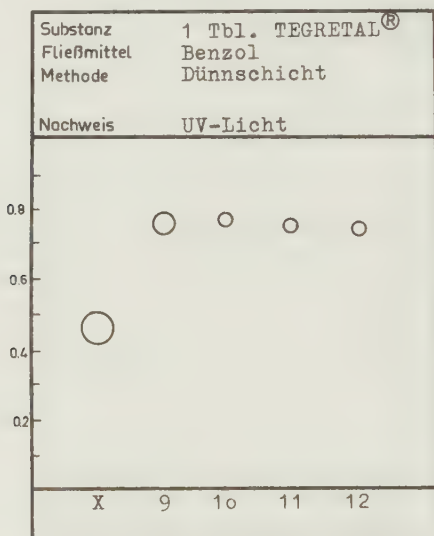


Nummer auf dem Chromatogramm	Datum	Uhrzeit	Nachweis	Rf
5	17.7.74	7 ⁰⁰	++	0,720
6	17.7.74	16 ⁰⁰	++	0,720
7	18.7.74	7 ⁰⁰	++	0,720
8	18.7.74	16 ⁰⁰	++	0,720
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon			+++	0,495

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL®) in zweimal täglich entnommenen Blutproben, nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL® am 15.7.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.

Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Dünnschichtchromatogramm vom 19. und 20.7.74

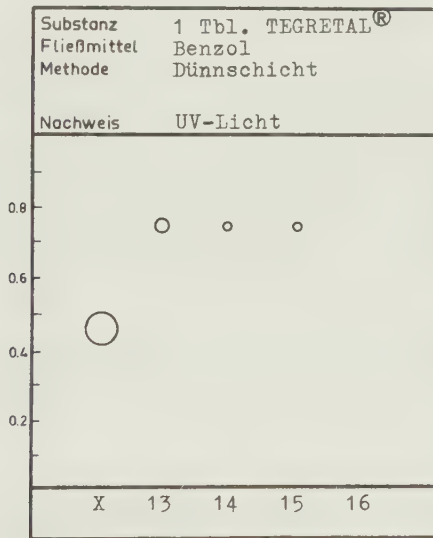


Nummer auf dem Chromatogramm	Datum	Uhrzeit	Nachweis	Rf
9	19.7.74	7 ⁰⁰	++	0,760
10	19.7.74	16 ⁰⁰	+	0,770
11	20.7.74	7 ⁰⁰	+	0,755
12	20.7.74	16 ⁰⁰	+	0,750
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon				+++ 0,464

Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL[®]) in zweimal täglich entnommenen Blutproben, nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL[®] am 15.7.74, neben 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon als Vergleichssubstanz.

Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Dünnschichtchromatogramm vom 21. und 22.7.74



Nummer auf dem Chromatogramm	Datum	Uhrzeit	Nachweis	Rf
13	21.7.74	7 ⁰⁰	+	0,745
14	21.7.74	16 ⁰⁰	(+)	0,745
15	22.7.74	7 ⁰⁰	(+)	0,745
16	22.7.74	16 ⁰⁰	∅	∅
X = 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon +++				0,464

Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL[®]) in zweimal täglich entnommenen Blutproben nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL[®] (200 mg) am 15.7.74.
Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

Versuchsergebnis

Carbamazepin war noch 139 Stunden nach Aufnahme von 200 mg sicher im Blut nachweisbar.

Bei der dünnschichtchromatographischen Darstellung von Carbamazepin im Urin neben dem Diazepammetabolit 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon finden sich bei physikalischer Detektion zwei sich überlagernde Substanzen mit nahezu gleichem Rf-Wert und optischem Verhalten.

Bei der Aufarbeitung von Blutproben erhält man deutlich im Rf-Wert unterschiedene Substanzflecke.

Dieses Versuchsergebnis warf die Frage auf, handelt es sich bei dem dünnschichtchromatographischen Nachweis von Carbamazepin im Blut und im Urin um die Darstellung der Originalsubstanz oder um die Darstellung eines Metaboliten.

Um diese Frage zu klären, wurde eine dünnschichtchromatographische Gegenüberstellung der folgenden vier Ansätze vorgenommen.

- 1) 1 Tbl. TEGRETAL® + Benzol
- 2) 1 Tbl. TEGRETAL® + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- 3) Urinprobe (20 ml) nach oraler Applikation von
1 Tbl. TEGRETAL® + 2,5 ml konz. HCl
- 4) Blutprobe (5 ml) nach oraler Applikation von
1 Tbl. TEGRETAL® + 5 ml H₂O + 3,0 ml konz. HCl

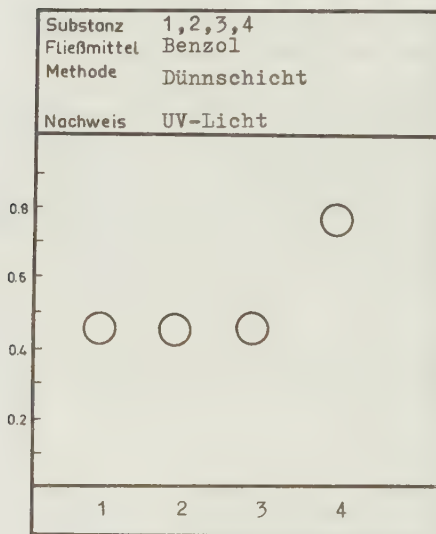
Die Ansätze 2,3 und 4 wurden nach beschriebener Methode aufgearbeitet, neben Ansatz 1 auf eine laut Vorschrift hergestellten Chromatographieplatte aufgetropft und in einer Glastrennkammer entwickelt.

Nach Erreichen einer Laufstrecke von ungefähr 17 cm wurde die Platte aus der Kammer herausgenommen und an der Luft getrocknet.

Im Anschluß daran wurde die Nativfluoreszenz unter der UV-Lampe registriert und durch die Angabe der Rf-Werte dokumentiert.

Dünnschichtchromatographische Gegenüberstellung von:

- 1) 1 Tbl. TEGRETAL® + Benzol
- 2) 1 Tbl. TEGRETAL® + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- 3) Urinprobe (20 ml) + 2,5 konz. HCl
- 4) Blutprobe (5 ml) + 5 ml H₂O + 3,0 ml konz. HCl



Rf-Wert	-1-	0,450
Rf-Wert	-2-	0,451
Rf-Wert	-3-	0,451
Rf-Wert	-4-	0,752

Dünnschichtchromatographische Gegenüberstellung von:

- 1) 1 Tbl. TEGRETAL[®] + Benzol
- 2) 1 Tbl. TEGRETAL[®] + 20 ml H₂O + 2,5 ml konz. HCl
- 3) Urinprobe (20 ml) + 2,5 ml konz. HCl
- 4) Blutprobe (5 ml) + 5,0 ml H₂O + 3,0 ml konz. HCl

Versuchsergebnis

Die Darstellung von TEGRETAL -Substanz neben dem TEGRETAL -Hydrolysat und dem renalen Ausscheidungsprodukt nach oraler TEGRETAL[®]-Applikation ergab nahezu identische Wandereigenschaften im Dünnschichtchromatogramm, dokumentiert durch die gleichen Rf-Werte.

Die Darstellung der Blutprobe nach oraler TEGRETAL -Einnahme zeigte, durch den wesentlich höheren Rf-Wert charakterisierte, von den Ansätzen 1,2 und 3 deutlich verschiedene Eigenschaften.

Die Gegenüberstellung läßt folgenden Schluß zu:

- 1) Bei der Darstellung der in der Blutprobe enthaltenen Substanz handelt es sich um einen Carbamazepinmetabolit, der sich von der Originalsubstanz deutlich unterscheidet.
- 2) Das renale Ausscheidungsprodukt scheint zwar anhand der Chromatographieergebnisse mit der Originalsubstanz identisch zu sein, doch handelt es sich mit hoher Wahrscheinlichkeit um einen Metabolit, der während der Körperpassage eine Umstrukturierung erfahren hat, in der Richtung, daß er, in Bezug auf die Wandereigenschaften im Dünnschichtchromatogramm, Ähnlichkeit mit der Originalsubstanz vortäuscht.

4. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Carbamazepin (TEGRETAL[®]) in Serumproben nach einer einmaligen Einnahme von 1 Tablette TEGRETAL[®] (200 mg).

Versuchsperson: N.L.; 26 J.; männl.; 63 kg

V Versuchsergebnis

Diese Kontrollversuche haben ergeben, daß bei Vorhandensein ausreichender frischer Blutmengen die Untersuchung auf Diazepam und Carbamazepin genauso gut in Blutserum erfolgen kann.

Die Aufarbeitung von Serum ist wesentlich einfacher als die der Vollbluthydrolysate.

Für die Praxis wird es im Einzelfall sinnvoll sein, bei genügenden Ausgangsmengen, statt Vollblut Serum zu verwenden.

5. . Ausarbeitung einer Methode zur eindeutigen Differenzierung von Diazepam (VALIUM®) und Carbamazepin (TEGRETAL®) nebeneinander.

Aus den Versuchen über den Nachweis von Diazepam und Carbamazepin in Urin und Blut ergaben sich zwei Differenzierungsmöglichkeiten:

- a) Der Nachweis von Diazepam neben Carbamazepin in Blut erbrachte für beide Pharmaka verschiedene Rf-Werte.

Da aber in der Regel ein Großteil der toxikologischen Untersuchungen an Urinproben durchgeführt werden muß, da eine geeignete Blutprobe nicht zur Verfügung steht oder beschafft werden kann, muß versucht werden anhand der Metabolitenmuster der beiden Pharmaka eine eindeutige Zuordnung zu finden.

- b) Beide Substanzen hatten verschiedene Fluoreszenzeigenschaften. Carbamazepin wies Nativfluoreszenz auf, während die Fluoreszenz des Diazepammetaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon erst nach 12 Stunden nachweisbar war.

Da die Möglichkeit a einen zu großen Arbeitsaufwand erforderte und bei der Differenzierungsmöglichkeit b die Störanfälligkeit sehr groß erschien, wurde nach einer Methode gesucht, die den, von G. Schmidt geforderten, Voraussetzungen für den Nachweis von Medikamenten gerecht wurde.

Die Methode zur Differenzierung von Diazepam und Carbamazepin wurde aus der von Kamm und Baier im Jahre 1968 beschriebenen Arbeitsvorschrift entwickelt.

Die beschriebene Methode zeichnete sich zwar durch große Spezifität und eine hohe Empfindlichkeit aus, sie hatte aber einen Nachteil; der Zeitaufwand war sehr groß.

Das Ziel der folgenden Versuche war es, eine Methode zu finden, die es erlaubte, Diazepam neben Carbamazepin sofort nachzuweisen.

Differenzierung von Diazepam und Carbamazepin mit Hilfe des Sprühmittels Jodoplatinat.

Auf eine Chromatographieplatte wurden die in Benzol gelösten Destillationsrückstände von Diazepam und Carbamazepin nach vorher beschriebener Methode aufgetropft und in einer Glastrennkammer mit Benzol als Fließmittel entwickelt. Nach einem kurzfristigen Trocknen unter einem kühlen Luftstrom wurde die Platte mit dem Sprühmittel Jodoplatinat besprüht.

Es zeigte sich keine farblich differenzierende Darstellung der Substanzflecke von Diazepam und Carbamazepin.

Eine Wiederholung des Versuches mit einer zwölfstündigen Wartezeit nach dem Herausnehmen der fertig entwickelten Platte aus der Glaskammer und anschließendem Besprühen mit Jodoplatinat zeigte eine braune Verfärbung in Höhe des Rf-Wertes des Diazepammetaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon. Der Substanzfleck von Carbamazepin verfärbte sich nicht.

Versuchsergebnis

Diese Methode erspart den Schritt der Diazotierung und erlaubt eine eindeutige Differenzierung von Diazepam und Carbamazepin, der Zeitaufwand beträgt aber immer noch mehr als zwölf Stunden.

Differenzierung von Diazepam und Carbamazepin durch den Sofortnachweis von Diazepam neben der Nativfluoreszenz von Carbamazepin.

An einer fertig besprühten Chromatographieplatte, auf der man Diazepam nach der von Kamm und Baier beschriebenen Arbeitsvorschrift dargestellt hatte, wurde beobachtet, daß sich, nach einem Zeitraum von wenigen Tagen, während dem die Platte dem Tageslicht ausgesetzt war, der gelbe Fleck des Diazepam-Metaboliten 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon in einen violetten Fleck umwandelte.

In der Annahme, daß die ultravioletten Strahlenanteile des Tageslichtes die Ursache für diese Farbumwandlung sein konnten, wurde die von Kamm und Baier entwickelte Darstellungsmethode für Diazepam abgewandelt.

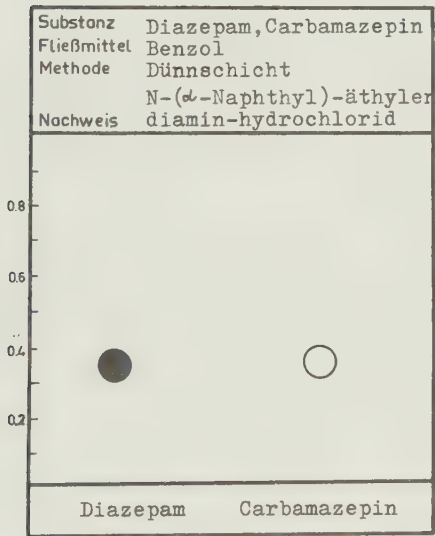
Arbeitsvorschrift zur Darstellung von Diazepam neben Carbamazepin

Auf einer Dünnschichtchromatographieplatte wurden die Aetherextrakte von Diazepam und Carbamazepin aufgetropft, in der Trennkammer mit Benzol als Fließmittel entwickelt und getrocknet. Anschließend wurde die Platte 20 Minuten lang mit einer UV-Bestrahlungslampe (Höhensonne) bestrahlt und danach diazotiert. Nach dem Trocknen unter einem kühlen Luftstrom wurde die Chromatographieplatte mit dem Sprühmittel N-(ω -Naphthyl)-äthylendiamin-dihydrochlorid besprüht.

Versuchsergebnis

In der Höhe des Diazepamabbauproduktes 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon erschien ein intensiv violett gefärbter Fleck, der in der Färbung dem Farbfleck des 2-Amino-5-chlor-benzophenon sehr ähnlich war.

Differenzierung von Diazepam (VALIUM®) und Carbamazepin (TEGRETAL®) durch den Sofortnachweis von Diazepam neben der Nativfluoreszenz von Carbamazepin.



Rf-Wert von Diazepam ----- 0,360

Rf-Wert von Carbamazepin ----- 0,362

Nachweis der Umwandlung von 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon in 2-Amino-5-chlor-benzophenon durch Bestrahlung mit ultravioletem Licht.

Die Substanz 2-Amino-5-chlor-benzophenon hat nach Entwicklung mit Benzol als Fließmittel den substanzspezifischen Rf-Wert 0,27.

Unter der Annahme, daß bei UV-Bestrahlung teilweise aus 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon das Entmethylierungsprodukt entsteht, müßte sich nach Fluierung, in einem weiteren Chromatogramm, in Höhe des Rf-Wertes 0,27 auch eine diazotierbare und kupplungsfähige Substanz nachweisen lassen.

Versuchsdurchführung

Eine Chromatographieplatte wurde mit Diazepam be-
tropft, in Benzol als Fließmittel entwickelt, ge-
trocknet und 12 Stunden stehenlassen. Die entstan-
dene Fluoreszenz des Diazepammetaboliten 2-Methyl-
amino-5-chlor-benzophenon wurde markiert und 20
Minuten lang mit UV-Licht bestrahlt.

Um das durch Bestrahlung entstandene 2-Amino-5-
chlor-benzophenon nachzuweisen, wurde der fluores-
zierende Fleck von der Platte abgetragen, in Benzol
gelöst, dreimal mit peroxydfreiem Aether extrahiert
und auf eine neue Platte aufgetropft.

Als Vergleichssubstanzen wurden 2-Methylamino-
5-chlor-benzophenon und 2-Amino-5-chlor-benzophenon
nach der von Kamm und Baier im Jahre 1968 be-
schriebenen Methode hergestellt, und deren Reinheit
durch Dünnschichtchromatographie und Schmelzpunkt-
bestimmung dokumentiert.

2-Methylamino-5-chlor-benzophenon	DC	0,36
	Fp	97° C
2-Amino-5-chlor-benzophenon	DC	0,27
	Fp	98° C

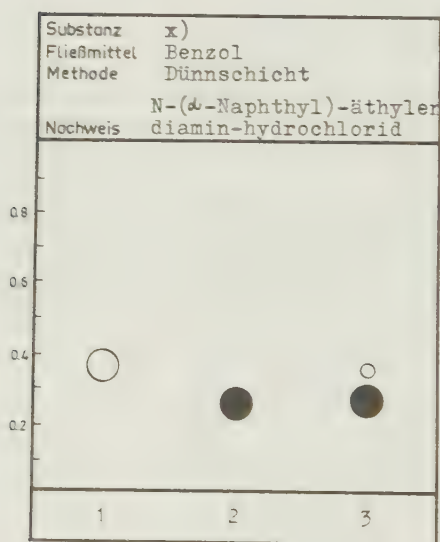
Diese beiden Substanzen wurden neben der schon aufgetropften zu bestimmenden Probe als Vergleichssubstanzen aufgetragen.

Versuchsergebnis

Das fertig entwickelte Chromatogramm zeigte über dem Startpunkt des Eluates zwei Substanzflecke in Höhe der Leitsubstanzen 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon und 2-Amino-5-chlor-benzophenon, womit bewiesen werden konnte, daß unter der Einwirkung von UV-Licht eine Abspaltung der Methylgruppe am Stickstoff des 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon eintritt.

Nachweis der Umwandlung von 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon in 2-Amino-5-chlor-benzophenon durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht.

- x) 1. 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon
 2. 2-Amino-5-chlor-benzophenon
 3. aus 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon durch UV-Bestrahlung gebildete Substanz



Rf-Wert von 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon-----0,360

Rf-Wert von 2-Amino-5-chlor-benzophenon -----0,270

Rf-Wert der aus 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon durch UV-Bestrahlung gebildete

Substanz -----0,273

Die vorgeschlagene Methodik zum Nachweis von Diazepam (VALIUM®) neben Carbamazepin (TEGRETAL®) im Urin.

In einem Schliffkolben werden 20 ml einer Urinprobe mit 2,5 ml konzentrierter Salzsäure versetzt und 30 Minuten unter Rückfluß im kochenden Wasserbad erhitzt. Das Hydrolysat wird abgekühlt und mit Hilfe von 10 n Natronlauge auf einen pH von 9 alkalisiert. Anschließend wird das Reaktionsprodukt dreimal mit peroxydfreiem Aether extrahiert; die Extrakte werden vereinigt und über wenig (200 mg) geglühtem Natriumsulfat entwässert. Nach Abdestillieren des Aethers werden die Rückstände in wenigen Tropfen Benzol aufgenommen und mit Hilfe von Kapillaren auf die Startpunkte einer, der Vorschrift von Kamm und Baier entsprechenden Dünnschichtplatte aufgetragen.

Als Vergleichssubstanzen dienen 2-Methylamino-5-chlor-benzophenon, Tegretal-Reinsubstanz und 2-Amino-5-chlor-benzophenon.

Die Platte wird in der Trennkammer (DESAGA) in die mobile Phase des Fließmittels (Benzol) getaucht und solange darin belassen, bis eine Laufstrecke von ungefähr 17 cm erreicht ist. Danach wird die Platte aus der Trennkammer herausgenommen und im kalten Luftstrom getrocknet.

Unter dem UV-Licht (366nm und 254 nm) zeigt sich bei Anwesenheit von Carbamazepin (TEGRETAL®) bei R_f 0,36 ein grünlich fluoreszierender Substanzfleck.

Nach Prüfung unter dem UV-Licht wird das Chromatogramm 20 Minuten lang intensiv mit kurzwelligem UV-Licht (Höhensonne, Mischlichtlampe- UV-Strahler) bestrahlt und nach Diazotieren in einer Kammer, beschickt mit 18 % iger Salzsäure und einigen Kriställchen Natriumnitrit, erfolgt nach Verjagen der überschüssigen Säure im Kaltluftstrom die Anfärbung durch Kupplung mit N-(α -Naphthyl)-äthylen-diamin-hydrochlorid.

Bei Anwesenheit von Diazepammetaboliten im Urin erscheinen 2 violett gefärbte Substanzflecke mit den Rf-Werten 0,36 und 0,27 .

D Zusammenfassung

Zu Beginn wird eine kurze Übersicht über die Grundzüge der Analytik von Pharmaka gegeben.

In den eigenen Untersuchungen werden drei Komplexe behandelt:

1. Untersuchungen zur Identifizierung des Pharmakons, das den dünnstschichtchromatographischen Nachweis von Diazepam (VALIUM®) stört.

Das Antiepileptikum Carbamazepin (TEGRETAL®) wird als das Medikament identifiziert, das zu einer Störung des qualitativen Nachweises von Diazepam (VALIUM®) und Diazepam-Metaboliten im Urin, aber nicht im Blut oder im Blutserum, nach dem Verfahren von Kamm und Baier führt.

2. Der Nachweiszeitraum für Carbamazepin (TEGRETAL®) mit diesem Verfahren im Urin und im Blut nach Einnahme von 200 mg oral wurde ermittelt.

Der Nachweiszeitraum für Carbamazepin im Urin beträgt 156 Stunden, im Blut 139 Stunden.

3. Eine Modifikation des Verfahrens wird ausgearbeitet, das den Nachweis von Diazepam und Diazepam-Metaboliten im Urin bei gleichzeitiger Einnahme von Carbamazepin rasch und zweifelsfrei ermöglicht.

Eine im klinischen Bereich leicht durchführbare Arbeitsvorschrift für diese Modifikation wird angegeben.

BLOM, S.: Zur Behandlung der genuinen Trigemius=neuralgie mit einem neuen Antikonvulsivum: Erfahrungen mit G 32883 (TEGRETAL®). Arch. Neurol. (Chic.) 9, 285-290 (1963)

BRAUNHOFER, J. und W. JESCH: Klinische Erfahrungen mit einem neuen Dibenzazepinderivat (G 32883 TEGRETAL®) in der Behandlung der Trigemius-Neuralgie. Med. Welt 200-203 (1964)

BRAUNHOFER, J.: Klinische Erfahrungen mit TEGRETAL®, 5-Carbamyl-5H-dibenzo(b.f)-azepin (G 32883 Geigy), einer neuen antiepileptisch wirksamen Substanz. Med. Klin. 60, 343-348 (1965)

GOENECHEA, S. und E. HECKE-SEIBICKE: Beitrag zum Stoffwechsel von Carbamazepin. Z. klin. Chem. u. klin. Biochem., 10, 112-113 (1972)

JACOBS: Über das Antiepileptikum TEGRETAL® aus pädo=psychiatrisch-neurologischer Sicht. Med. Klin. 59, 1070-1071 (1964)

KAMM G. und R. BAIER: Nachweis von Chlordiazepoxyd und Diazepam in kleinen Blutmengen. Arzneim. Forsch. 19, 213 (1969)

KETZ, E.: TEGRETOL® - ein neues Antiepileptikum Praxis 8, (1964)

SCHEIFFARTH, F., F. WEIST und L. ZICHA: Zum Nachweis von 5-Carbamyl-5H-dibenzo(b.f)-azepin im Liquor cerebrospinalis mittels Dünnschichtchromatographie Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 4, 68-70 (1966)

SCHMIDT, Gg.: Der forensische Beweiswert toxikologischer Untersuchungsmethoden. Beitr. gerichtl. Med. 25, 122-127 (1969)

STENGER, E.G. und F.C. ROULET: Zur Toxikologie des Antiepileptikums TEGRETOL®. Med. exp. 11, 191-201 (1964)

Für die Überlassung des Themas und für die Unterstützung beim Aufbau der Arbeit bin ich Herrn Professor Dr. R. Hilgermann zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Professor Dr. J. Portig
danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Für viele Anregungen bin ich Herrn Dipl.-Chemiker G. Kamm, Institut für Rechtsmedizin der Universität Marburg, besonders dankbar.

Lebenslauf

Am 19. Januar 1948 wurde ich in Lützellinden/Kreis Wetzlar geboren. Nach einem Wohnungswechsel nach Lollar/Kreis Gießen besuchte ich dort von 1954 bis 1958 die Grundschule. Die höhere Schulausbildung an der Liebigschule in Gießen schloß ich am 2. November 1966 mit dem Abitur ab. Im Zeitraum Dezember 1966 bis März 1967 machte ich das Krankenpflegepraktikum im Ev. Schwesternhaus in Gießen. Von April 1967 bis März 1968 leistete ich den Grundwehrdienst bei der Bundeswehr ab. Vom Sommersemester 1968 bis Sommersemester 1969 war ich an der Philipps-Universität Marburg an der Fakultät für Naturwissenschaften immatrikuliert. Das Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1969/70. Das Vorphysikum bestand ich am 25. März 1971, das Physikum am 19. September 1972. Am 15. Januar 1976 beendete ich das Medizinstudium mit dem Staatsexamen. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent im Ev. Schwesternhaus in Gießen beschäftigt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren
Professoren:

AMON, ARNDT, AURICH, BUCHHOLZ, CASTENHOLZ,
DAUME, DEHNICKE, DIMROTH, DITTRICH, DOSS,
EGBRING, EXNER, FRIEDRICH, GANZ, GRAUL,
HABERICH, HAMELMANN, HARDEWIG, HENNESSEN,
HENSEL, HEB, HILDEBRAND, HILGERMANN, HORT,
JACOB, KAFFARNIK, KARLSON, KLAUS, KLEIN,
KLEINSASSER, KNAUFF, KOECKE, KORANSKI,
LINNEWEH, 'MANNHEIM, MARTINI, NULTSCH, PETRY,
PORTIG, POTS, RICHTER, RIEKEN, RODECK, ROHEN,
SCHIFF, SCHLEYER, SCHMID, SCHMITZ-MOORMANN,
SCHNEIDER, SIEGERT, STRAUB, STROHMEYER,
THOENES, UHLARIK, WALCHER, WEHRMEYER,
WELGE-LÜSSEN, WENDT, WESEMAN, WILLENBOCKEL

difo-druck · 8600 bamberg
untere königstraße 30